

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K16750

研究課題名(和文)慢性痛の発症及び治療における、セロトニントランスポーターの関与についての検討

研究課題名(英文) Effects of polymorphisms in the serotonin transporter promoter-Linked polymorphic region on incidence of chronic pain and the treatment.

研究代表者

山崎 広之 (Yamasaki, Hiroyuki)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：70759000

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：痛みや鎮痛における個人差に遺伝的要因が関係すると考えられており、様々な受容体・チャネルそしてトランスポーターの遺伝子多型が注目されている。その1つとして、近年、セロトニントランスポーター(5-HTTLPR)遺伝子多型が慢性痛に与える影響を検討した。本研究から、5-HTTLPR遺伝子多型単独では開胸術後疼痛症候群発症の予測因子とはならないことが示された。また、帯状疱疹後神経痛の痛みの質、強さに5-HTTLPR遺伝子多型が影響していることは見出されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、セロトニントランスポーター(5-HTTLPR)遺伝子多型が鎮痛薬の効果や慢性痛発症と関連している可能性が示されているが、今回の一連の研究では、5-HTTLPR遺伝子多型単独でははっきりと術後の痛みから慢性的な痛みへの影響、帯状疱疹後神経痛の痛みの強さや性質への影響は見いだせなかった。慢性痛と遺伝的要因に関する研究はまだまだ少なく、今後このような研究の発展により痛みの個人差が明らかになり、痛み治療の進歩につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Serotonin (5-HT) is highly associated with pain modulation. The human 5-HT transporter (5-HTT) gene (SLC6A4) features several polymorphisms in its promoter region (5-HTTLPR) that affect the 5-HTT expression. This study assessed the role of 5-HTTLPR polymorphisms in incidence of chronic pain and the treatment. This study suggests that polymorphisms in 5-HTTLPR is not associated with postthoracotomy pain severity. Furthermore, polymorphisms in 5-HTTLPR is not associated with postherpetic neuralgia pain severity and quality.

研究分野：麻酔科学

キーワード：セロトニントランスポーター遺伝子 慢性痛 開胸術後疼痛症候群 帯状疱疹後神経痛

1. 研究開始当初の背景

慢性痛は急性疾患の通常の経過あるいは創傷の治癒に要する妥当な時間を超えて持続する痛みと定義され、患者の QOL を損ない、治療に難渋することが未だに多い。慢性痛の治療は長期間にわたる場合があり、治療薬の副作用には重篤なものが含まれている。このため、有害事象を防ぎながら有効な除痛を図るためには、個々の病態、患者背景に適合した安全な薬剤選択が望まれる。また、急性痛が遷延し慢性痛へ移行していく過程には心理的因子、病前性格、遺伝的素因など様々な患者背景が関わっている可能性が示唆されており、慢性痛発症を予測する上で重要な判断材料となる。しかし、遺伝的素因と慢性痛の関連についての報告は少なく、今後の発展が望まれる。

セロトニン(5-hydroxytryptamine: 5-HT)は生理活性アミンの一種であり、情動や疼痛反応に関与している。5-HT の膜輸送体であるセロトニントランスポーター (5-HTT) は神経終末に発現し、シナプスから 5-HT を除去する役割を担っている。5-HTT 遺伝子のプロモーター領域 (5-HTTLPR) には多型性があり、主には特定の領域を 16 回反復する長いアレル(5-HTT L)と 14 回反復する短いアレル(5-HTT S)の 2 種類に分類される。このプロモーター領域の違いにより、mRNA への転写頻度が 5-HTT L では 5-HTT S と比較して約 2 倍になり、神経細胞における 5-HTT の密度およびシナプスの発火頻度に影響する。精神科領域での研究では性格やアルコール依存、うつ病の頻度と 5-HTTLPR 多型に関連があるとの報告があり、さらにセロトニン再取り込み阻害薬の抑うつ症状に対する効果にも影響する。また、5-HTT L および 5-HTT S の比率には地域差がある。疫学調査では、日本人では L/L 型の対立遺伝子を持つ者の割合は 3% で、S/L 型が 30%、S/S 型が 60%と報告されており、他地域と比較して S/S 型の比率が多い。セロトニンは下降性疼痛抑制系において重要な役割を担っており、最近では疼痛とセロトニントランスポーターの関連性に関する研究報告も行われるようになってきた。我々は疼痛に関する基礎研究を行いながら、日常的に慢性痛の診療にも従事しており、この分野の研究発展の重要性を認識するに至った。

2. 研究の目的

本研究では、以下の 2 つの観察研究を行った。

肺癌手術後の術後痛の強さおよび開胸術後疼痛症候群発症率とセロトニントランスポーター遺伝子の関連性を、前向き観察研究により疫学的に検討する。これにより、セロトニントランスポーター遺伝子多型が開胸手術後の術後痛に影響し、S/S 型では慢性痛への移行率が高くなるかどうかを明らかにすることができる。

帯状疱疹後神経痛患者の痛みの性質、強度と生活の質とセロトニントランスポーター遺伝子の関連性を、横断的研究により検討する。帯状疱疹後神経痛の疼痛強度への影響や治療反応性を評価することで、慢性痛の病態、治療への遺伝子の影響に関する知見を得ることができる可能性がある。

3. 研究の方法

ジェノタイピングの方法は、¹⁾ の研究とも共通の手法をとった。DNA は、QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) を使用し綿棒で患者の口腔粘膜から抽出し、ポリメラーゼ連鎖反応を介して分析した。5-HTT 多型のフォワードおよびリバースプライマー配列は、それぞれ 5'-GCAACCTCCCAGCAACTCCCTGTA-3' および 5'-GAGGTGCAGGGGATGCTGGAA-3' を使用した。各サンプルは、KOD FX Neo (TOYOBO) を使用して増幅された。バッファー (10 μ L)、デオキシリボヌクレオチド三リン酸 (4 μ L)、フォワードおよびリバースプライマー (それぞれ 0.6 μ L)、KOD FX neo DNA ポリメラーゼ (0.4 μ L)、蒸留水 (0.4 μ L)、25~50 ng のゲノム DNA (2 μ L) を混合し、20 μ L の PCR 反応混合物とした。サイクリングプログラムは以下の通りであった。94 で 2 分間、98 で 10 秒間および 64 で 20 秒間の 35 サイクル、および 4 での保存。次に、3130xl Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) を使用した電気泳動により PCR 産生を分析した。PCR フラグメントサイズ (S 対立遺伝子、138 bp; L 対立遺伝子、182 bp) に基づいて、2 つの対立遺伝子変異体が同定された。サンプルは、S/S、S/L、L/L の 3 つの遺伝子型に分類された。

2017年度から2019年度は の研究を、2020年度から2021年度は の研究を行った。

当施設と関連施設の合計2施設で肺癌手術を受ける患者を対象として、術後急性痛から開胸術後症候群への移行とセロトニントランスポーター遺伝子多型の関連性を前向き観察研究により検討した。手術前に各患者の口腔スワブ検体を採取し遺伝子検査を行い、痛みの破局化スコア、現在の慢性痛の有無に関するアンケート調査を行った。主解析としては、術後NRSの経時的変動がSS型である群とSS型でない群で異なることを検証するため、説明変数に時間、遺伝子型、それら2変数の乗算項を含めた混合効果モデルによる解析を行った。遺伝子型についてはSS型であるか、SS型でないかを表す2値変数として扱った。ここで共変量として考えられる、術前慢性疼痛の有無、年齢、性別、硬膜外麻酔の有無は全て調整変数として考慮した。また副次的な解析として、術後NRSに対するリスク因子を検討する探索的な解析を行った。リスク因子として、術前慢性疼痛の有無、硬膜外麻酔の有無、術式、痛みの破局化スコアを考慮するため、時間と遺伝子型の乗算項の代わりに、時間と遺伝子型と各リスク因子の三変数の乗算項を説明変数に加えて同様の解析を行った。

ペインクリニック科に通院中の帯状疱疹後神経痛患者のうち、十分なインフォームドコンセントの上、同意が得られた者が対象となった。5-HTTLPR 遺伝子多型測定のため口腔スワブ検体を採取し遺伝子検査を行った。また、現時点での痛みスコア、痛みの質、生活への影響に関して問診を行い、5-HTTLPR 遺伝子多型(L型、S型)との関係を解析する。横断的探索的研究であり、外来通院中の帯状疱疹後神経痛患者を対象とした。帯状疱疹後神経痛と5-HTTLPR 遺伝子多型の関連性を解析した先行研究は無く、 の研究結果から、5-HTTLPR 多型性単独では痛みスコアに有意な影響を及ぼさない可能性も高いと考えられた。そのため、少人数での予備研究から開始することにした。

4. 研究成果

162人の患者を対象にデータを解析した。162症例中、セロトニントランスポーター発現頻度の少ないSS型が109例、非SS型が53例であった。術直後から12か月目までの各時点でのNRS値および経時的なNRSの改善傾向についてSS型と非SS型に有意差は認められなかった。一方サブグループ解析では、硬膜外麻酔を併用しなかった場合SS型は非SS型に比べてNRSの経時的な改善が得られにくい傾向にあった。術前の慢性痛の有無、術式、痛みの破局化スコアはSS型、非SS型の違いによる術後NRSの変動に有意な影響を与えなかった。本研究から5-HTTLPR 遺伝子多型単独では開胸術後疼痛症候群発症の予測因子とはならないが、硬膜外麻酔の有無と遺伝子多型がNRSの経時変化に関与し、遺伝子型と麻酔方法が相乗効果として慢性痛への移行に影響している可能性が示唆された。遺伝子多型検査が、術後慢性痛への移行を踏まえたより適切な術中麻酔方法の選択に寄与する可能性がある。慢性痛と遺伝的要因に関する研究はまだ少なく、今後このような研究の発展により痛みの個人差が明らかになり、痛み治療の進歩につながることを期待される。我々は本研究を学術論文にまとめ、オープンアクセス誌に掲載している[1]。

予備研究として、通院中の帯状疱疹後神経痛患者のうち、十分なインフォームドコンセントの上、同意が得られた者38名を対象とした。5-HTTLPR 遺伝子多型測定のため頬部からDNA試料を採取し、また、現時点での痛みスコア、痛みの質、生活への影響に関して問診を行い、5-HTTLPR 遺伝子多型(L型、S型)との関係を解析した。38名のうち、LL型は2名、LS型は14名、SS型は22名であった。仮説としてSS型が有意に疼痛スコアが高値となることを想定したが、平均NRSスコアは5/10で、LL/LS型とSS型に統計学的な有意な差は認められなかった。また、痛みの破局化スコア、Short-Form McGill Pain Questionnaire 2スコアにも有意な差は認められなかった。疼痛強度には遺伝以外の様々な要因が関与していると考えられ、遺伝的要因についてもセロトニントランスポーター多型以外の原因遺伝子が複数関与していると考えられ、本研究の対象患者数を増やしてデータを追加したとしても、解析対象がセロトニントランスポータープロモーター領域だけでは有用な研究にはなりにくい可能性が高く、帯状疱疹関連痛への遺伝的要因を解析するためには原因遺伝子候補の再考を行う必要があると考えられた。

1. Kimura A, Yamasaki H, Ishii H, Yoshida H, Shimizu M, Mori T. Effects of Polymorphisms in the Serotonin Transporter Promoter-Linked Polymorphic Region on Postthoracotomy Pain Severity. *J Pain Res.* 2021;14:1389-97.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kimura Aya, Yamasaki Hiroyuki, Ishii Haruka, Yoshida Hisako, Shimizu Motoko, Mori Takashi	4. 巻 Volume 14
2. 論文標題 Effects of Polymorphisms in the Serotonin Transporter Promoter-Linked Polymorphic Region on Postthoracotomy Pain Severity	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Pain Research	6. 最初と最後の頁 1389 ~ 1397
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/JPR.S298685	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 平井 杏奈、木村 文、山崎 広之、清水 雅子、森 隆、西川 精宣
2. 発表標題 開胸術後疼痛症候群発症とセロトニントランスポーター遺伝子多型との関連性 混合効果モデル を用いた術後急性痛から慢性痛への痛みスコア推移の検討
3. 学会等名 日本麻酔科学会第67回学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------